

王 立, 张 坤, 邹 烨, 等. 超声辅助提取对鸡肝蛋白结构及功能特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(5): 1153-1160.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.05.026

超声辅助提取对鸡肝蛋白结构及功能特性的影响

王 立¹, 张 坤^{1,2}, 邹 烨¹, 张新笑¹, 李鹏鹏¹, 王道营¹, 徐为民¹

(1.江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏 南京 210046)

摘要: 以鸡肝为原料, 采用 NaOH 溶剂为提取剂, 采用超声辅助法提取鸡肝蛋白, 并与常规水浴提取法得到的鸡肝蛋白作比较, 通过紫外吸收光谱、荧光光谱、傅里叶红外光谱、扫描电镜研究超声辅助提取对鸡肝蛋白结构的影响, 结果表明, 与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比, 超声辅助提取鸡肝蛋白的得率和总蛋白质含量分别提高了 58.1% 和 9.6%, 超声辅助提取导致鸡肝蛋白结构发生伸展, 蛋白结构发生改变。与常规水浴提取相比, 超声辅助提取可显著提高其凝胶性能, 超声辅助提取并没有改变鸡肝蛋白的亚基组成, 但超声辅助提取的鸡肝蛋白的溶解度、持水性及吸油性、起泡性及起泡稳定性和乳化性及乳化稳定性均得到显著提高 ($P < 0.05$), 因此超声辅助提取能显著提高鸡肝蛋白的功能特性, 该研究结果为鸡肝蛋白的深加工提供了一定的科学依据和理论基础。

关键词: 鸡肝蛋白; 超声辅助提取; 蛋白质结构; 功能特性

中图分类号: TS251.5⁺5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)05-1153-08

Effect of ultrasound assisted extraction on the structural and functional characteristics of chicken liver protein

WANG Li¹, ZHANG Kun^{1,2}, ZOU Ye¹, ZHANG Xin-xiao¹, LI Peng-peng¹, WANG Dao-ying¹, XU Wei-min¹

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210046, China)

Abstract: The chicken liver was used as raw material, and NaOH solvent was used as extraction agent. The chicken liver proteins were extracted by ultrasound-assisted method and compared with those extracted by the conventional extraction method. The effect of ultrasound assisted extraction on the structure of chicken liver proteins was investigated by ultraviolet absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, fourier infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, respectively. The results showed that the extraction rate and total protein content of chicken liver proteins extracted by ultrasound-assisted method were increased by 58.1% and 9.6% compared with those extracted by the conventional extraction method, respectively. Ultrasound effect resulted in the extension of the structure of chicken liver protein. Through the rheological properties of chicken protein, ultrasound could significantly improve the gel property ($P < 0.05$). The ultrasound-assisted extraction did not alter the subunit composition of chicken liver protein. The solubility, water-holding capacity and oil absorption capacity, foaming property and foaming stability, emulsifying property and emulsifying stability of chicken liver protein obtained by ultrasound-

assisted extraction method were significantly improved ($P < 0.05$), indicating that the ultrasound-assisted extraction could significantly improve its functional characteristics. These results provide scientific basis and theoretical basis for deep processing of chicken liver protein.

Key words: chicken liver protein; ultrasound-assisted extraction; protein structure; functional characteristics

收稿日期: 2017-12-06

基金项目: 国家现代农业(肉鸡)产业技术体系建设专项(CARS-41); 江苏省重点研发计划项目(BE2016320)

作者简介: 王 立(1990-), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工研究。(E-mail) 247391269@qq.com

通讯作者: 邹 烨, (E-mail) zouye@jaas.ac.cn

鸡肝为雉科动物家鸡的肝脏,占鸡体质量的 2.0%~2.5%,是一种营养丰富、附加值较高的肉制品加工副产物之一^[1]。鸡肝富含蛋白质、脂肪、糖类,同时还含有钙、铁、磷、铁、锌、硒、 V_A 、 V_{B_2} 等营养元素^[2],其中 V_A 含量远超蛋、奶、肉等食品。鸡肝中硒等微量元素是重要的营养物质,具有增强机体免疫力、抗氧化、抑制肿瘤等^[2] 重要功能。鸡肝蛋白是一类以共价键连接而成的生物大分子,在生物的新陈代谢中具有重要功能。

超声辅助提取作为一种新型的非热物理加工技术,适用于不同来源的生物活性提取^[3-4],特别是在蛋白提取等食品领域具有广泛的应用前景,它在促进食品中有效成分的提取具有独特的优势,具有溶剂用量少、蛋白质提取率高等优点^[5]。通过超声效应,进一步改变其蛋白质内部分子结构,如维持蛋白质结构的化学键——氢键、范德华力、疏水性等,从而改变其溶解性、持水性、持油性、乳化性、起泡性等功能特性,虽然鸡肝含优质完全蛋白质,但到目前为止,对鸡肝进行深加工提取鸡肝分离蛋白质,进一步研究鸡肝蛋白的结构特征及功能特性的研究报道较少。因此,本研究采用超声辅助碱法提取鸡肝蛋白,进一步研究其结构特征和功能特性,为充分利用肉制品加工副产物鸡肝蛋白在食品等领域的潜在价值提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料:鸡肝蛋白为实验室自制,试剂:凝固酶、Marker 标品由上海源叶生物科技有限公司生产,考马斯亮蓝由南京建成生物科技有限公司生产,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-6100 型紫外分光光度计购自上海美普达仪器有限公司,FL-4600 荧光分光光度计购自日本日立高新技术公司,Zeta 电位分析仪购自上海麦克默瑞提克仪器有限公司,傅里叶变换红外光谱仪购自天津港东科技发展股份有限公司,EVO-LS10 扫描电子显微镜购自德国蔡司股份有限公司,Uncen MR 台式冷冻离心机购自英国 Hero lab 公司,M124A 电子天平购自意大利 BEL 公司,便携式 pH 计购自美国 OUAUS 公司,HJ-8(DF-1)集热式磁力搅拌器购自常州国华电器有限公司,高速均质机购自德国

IKA 公司,AR2000 流变仪购自英国 TA 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 鸡肝蛋白的提取工艺 常规水浴提取:新鲜鸭肝(10 g)→匀浆(10 000 r/min,30 s)→异丙醇脱脂(10%,静置 12 h)→离心(5 000 g,15 min)→干燥→水浴提取[时间:40 min,温度:40 ℃,料液比 1:60(体积比),NaOH 1%]→离心(5 000 g,15 min)→取上清液→测定常规水浴提取鸡肝蛋白含量(考马斯亮蓝法)→透析→真空冷冻干燥。

超声辅助水浴提取:新鲜鸡肝(2 g)→匀浆(10 000 r/min,30 s)→异丙醇脱脂(10%,静置 12 h)→离心(5 000 g,15 min)→干燥→超声辅助水浴提取[超声功率:150 W,超声时间:40 min,温度:40 ℃,料液比 1:60(体积比),NaOH 1%]→离心(5 000 g,15 min)→取上清液→测定超声辅助提取鸡肝蛋白含量(考马斯亮蓝法)→透析→真空冷冻干燥。

1.3.2 鸡肝蛋白提取率的测定 鸡肝蛋白得率=所提鸡肝蛋白总量/原料中粗蛋白总量×100%

1.3.3 鸡肝蛋白的结构测定

1.3.3.1 鸡肝蛋白的紫外可见分光光谱测定 使用 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液配制 1.0 mg/ml 常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白溶液,在 25 ℃ 下使用紫外可见分光光度计在波长 200~700 nm 对 2 种蛋白溶液进行分析测定。紫外分光光度计扫描条件:石英比色皿 1 cm,扫描速度 10 nm/min,步长 1 nm。0.01% 的磷酸盐缓冲液的光谱作为空白光谱,鸡肝蛋白溶液的光谱与磷酸盐缓冲液光谱的差谱即为鸡肝蛋白的紫外光谱^[6]。

1.3.3.2 鸡肝蛋白的荧光光谱测定 使用 10 mmol/L 的磷酸盐缓冲液(pH7.0)制备 0.2 mg/ml 常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白溶液。在 25 ℃ 下使用荧光分光光度计对 2 种溶液进行分析。使用光程为 1 cm 的石英比色皿。激发波长为 280 nm,发射光谱范围为 300~460 nm。激发和发射狭缝宽度为 2.5 nm,扫描速度为 1 200 nm/min^[7]。

1.3.3.3 鸡肝蛋白的凝胶电泳测定(SDS-PAGE)

制备 12% 的分离胶和 5% 的浓缩胶,将常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白上清液与上样缓冲液进行混合,沸水浴 10 min,于 12 000 g 离心 3 min。取 15 μ l 的上清液上样。采用分子量蛋白 Marker(10~180 000)作为对照,加入 1 L 的电泳缓冲液,

在电泳电流为 16 mA 下进行 15 min 后再在 32 mA 下进行 1 h。电泳结束后,采用考马斯亮蓝 R-250 染色 15 min,通过脱色液进行脱色,直至可以清楚辨别条带为止^[8]。

1.3.3.4 鸡肝蛋白的傅里叶红外光谱测定 使用 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液配制 0.2 mg/ml 常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白溶液。在 25 ℃ 下使用傅里叶红外光谱仪在波数 525~4 000 cm^{-1} 内对 2 种蛋白溶液进行扫描。扫描条件:加样量 0.5 ml,分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数 7 209,磷酸盐缓冲液红外光谱作为空白,蛋白溶液与空白光谱的差值即为鸡肝蛋白溶液的红外光谱图^[6]。

1.3.3.5 鸡肝蛋白的流变特性测定 采用 AR2000 流变仪,选择直径 40 mm,不锈钢平板测量系统,平板间距 1 mm,温度 25 ℃,剪切速率 20~200 s^{-1} ,记录其剪切黏度及剪切应力的变化情况。

将凝固酶添加到常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白溶液中以实现凝胶化。在加入凝固酶之前,先加入 0.02% CaCl_2 。在 30 ℃ 下加入凝固酶凝胶后,将凝胶样品(20 ml)置于同心圆筒中。于流变仪中记录样品的储能模量(G')和损耗模量(G''),并将储能模量数据用于凝胶化评估,试验平行做 3 次^[9]。

1.3.3.6 鸡肝蛋白的扫描电镜观察 将常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白采用液氮吹干,采用扫描电镜(SEM)观察其蛋白表面微观结构。扫描电镜条件:加速电压 10 kV。

1.3.4 鸡肝蛋白的功能特性测定

1.3.4.1 鸡肝蛋白的溶解性测定 为了测定其溶解度,将 10 mg 样品溶于 8 ml 蒸馏水中,并用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调节 pH 分别至 2、4、6、8、10 和 12,并将混合物于室温下搅拌 30 min。在 5 000 g 离心 15 min,通过蒸馏水将溶液体积预先调节至与样品溶液相同的 pH。采用考马斯亮蓝法测定其上清液中的蛋白质含量^[10]。蛋白质溶解度计算如公式为:溶解度=上清液蛋白质含量/总蛋白质含量 $\times 100\%$ 。

1.3.4.2 鸡肝蛋白的持水性测定 称取 100 mg 常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白于 10 ml 离心管中,加入 5 ml 去离子水充分混匀,于室温下静置 1 h,5 000 g 离心 10 min,去除上清液,将离心管倒置于滤纸上以去除多余水分,准确称取沉淀质量。以每克样品吸附水的质量数表示持水性^[11]。持水性计算公式为:持水性=(沉淀物总质量-样品质

量)/样品质量 $\times 100\%$ 。

1.3.4.3 鸡肝蛋白的吸油性测定 称取 100 mg 常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白于 10 ml 离心管中,加入 5 ml 色拉油并充分混匀,于室温下静置 1 h,5 000 g 离心 10 min,去除上层未吸附的色拉油后准确称质量,以每 1 g 蛋白质样品吸附油的质量数表示吸油性(OHC)^[12]。吸油性计算公式为:吸油性=(沉淀物质量-样品质量)/样品质量 $\times 100\%$ 。

1.3.4.4 鸡肝蛋白的起泡性及起泡稳定性的测定 制备 0.1%、0.5%、1.0% 及 2.0% 的 20 ml 常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白溶液至 100 ml 量筒内,测定此时溶液的体积(V_0)。然后将溶液在高速均质机下以 12 000 g 均质 30 s 后立即转移到量筒内,测量此时量筒内的样品体积(V_T),静置 60 min 测量此时量筒内的样品体积(V_l)^[13]。起泡性(FC)和起泡稳定性(FS)计算公式分别为:起泡性= $V_T/V_0 \times 100\%$;起泡稳定性= $V_l/V_0 \times 100\%$ 。式中: V_T 是均质后的总体积; V_0 是均质前的原始体积; V_l 是在室温下静置 60 min 后的总体积。

1.3.4.5 鸡肝蛋白的乳化性及乳化稳定性的测定 通过分光光度法测定常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白的乳化性,采用 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液配制鸡肝蛋白溶液的质量比为 0.15,加入大豆油,混合液总体积为 40 ml。采用高速均质机将混合液于 10 000 g 下均质 1 min,乳状液待用。取底部乳状液 50 μl ,用 0.1% 十二烷基硫酸钠溶液将鸡肝蛋白稀释至 100 倍置于比色皿中,以十二烷基硫酸钠溶液作为空白,于 500 nm 处测定吸光度 A_0 ,10 min 后,测吸光度 A_{10} ^[14],乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)计算公式分别为:

$$EAI(m^2/g) = \frac{2 \times 2.303}{C(1-\phi) \times 1000} \times A_0 \times \text{稀释倍数};$$

$$ESI(\text{min}) = \frac{10 \times A_0}{A_0 - A_{10}}。$$

式中: A_0 为 0 min 时测定的吸光度; A_{10} 为 10 min 时测定的吸光度; C 为鸡肝蛋白的质量浓度; ϕ 为大豆油的质量比(0.15)。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 16.0 统计软件进行处理,结果以平均值 \pm 标准差表示,Turkey 检验用于两组间的数据分析, $P < 0.05$ 表示两组之间具有显著性差异,采用 Origin 9.0 作图。

2 结果与分析

2.1 鸡肝蛋白提取率

由表 1 可知,与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白的得率和总蛋白质含量分别提高了 58.1%、9.6%,这可能是由于超声提取导致鸡肝蛋白细胞壁破裂,加快了溶剂的渗透效率,从而提高了蛋白质提取率^[5]。Zou 等^[5]采用超声辅助提取鸭肝蛋白,得率和总蛋白质含量分别提高了 67.7%、4.6%,表明采用超声提取可显著提高蛋白质提取率和总蛋白质含量。

表 1 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的蛋白质得率和总蛋白质含量

Table 1 Protein yield and total protein content of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

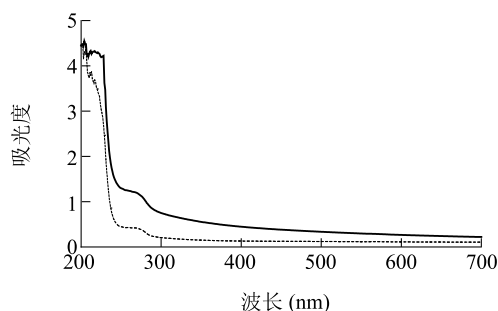
类型	得率(%)	总蛋白质含量(%)
常规提取的鸡肝蛋白	45.3±2.4b	81.6±1.9b
超声辅助提取的鸡肝蛋白	71.6±3.2a	89.4±1.8a

同一列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 鸡肝蛋白结构

2.2.1 鸡肝蛋白的紫外可见光谱 蛋白质的近紫外吸收光谱(250~350 nm)与它的芳香族氨基酸(色氨酸、酪氨酸等)密切相关,波长 250~350 nm 处的紫外吸收光谱图可提供蛋白质分子在溶液中的构象变化^[6]。由图 1 可知,与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,采用超声辅助提取的鸡肝蛋白,紫外吸收光谱发生明显位移变化,并且吸收强度具有不同程度的增加趋势。在波长 285 nm 处,常规水浴提取和超声辅助提取的鸡肝蛋白具有明显的特征吸收峰,与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白紫外吸收强度显著增大,这可能是由于超声处理后导致其分子内部的疏水性基团暴露^[15],使其不饱和基团增加,这与金建^[6]采用双频超声预处理玉米醇溶蛋白的结果是一致的,表明超声提取改变了鸡肝蛋白的内部结构,使其紫外吸收强度明显提高。

2.2.2 鸡肝蛋白的荧光光谱 荧光光谱是表征蛋白质分子构想发生变化的另一手段,通过测定蛋白质中部分能产生荧光的氨基酸(色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸)残基来推测其蛋白质构想的变化趋势^[16]。由图 2 可知,在波长 330~340 nm 处,常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的荧光强度

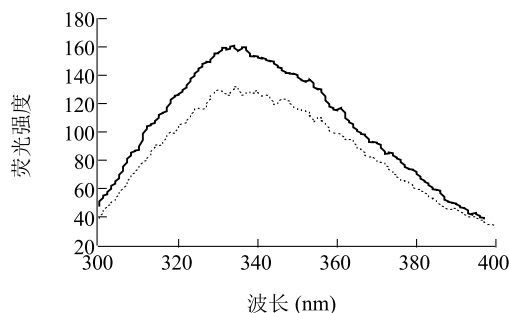


----- 常规水浴提取的鸡肝蛋白; — 超声辅助提取的鸡肝蛋白

图 1 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的紫外光谱

Fig.1 Ultraviolet spectra of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

最高。与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,采用超声辅助提取的鸡肝蛋白荧光强度显著提高,这可能是由于经超声处理后,鸡肝蛋白内部结构发生伸展,破坏了其分子间作用力,导致部分色氨酸残基暴露,从而提高了其荧光强度^[17]。任晓锋^[7]通过双频超声预处理玉米醇溶蛋白后其荧光强度明显提高。表明采用超声辅助提取导致鸡肝蛋白二级结构发生变化,这可能与超声处理时产生的剪切力有关^[18]。



----- 常规水浴提取的鸡肝蛋白; — 超声辅助提取的鸡肝蛋白

图 2 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的荧光光谱

Fig.2 Fluorescence spectra of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

2.2.3 鸡肝蛋白的凝胶电泳 由图 3 可知,常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的所有条带是完整的,没有出现额外碎条带,这与 Zhang 等^[19]研究采用超声处理后花生蛋白凝胶电泳没有发生变化是一致的,说明超声辅助提取并没有改变鸡肝蛋白的亚基组成^[20]。

2.2.4 鸡肝蛋白的傅里叶红外光谱 蛋白质的肽键是一种酰胺键,它在红外区有特征吸收峰,其中酰胺 I 带对蛋白质结构分析最为重要,它与蛋白质二级结构具有一定的对应关系,酰胺 I 带具有一个最大吸收峰(波数为 $1\,648\text{ cm}^{-1}$),该峰对蛋白质二级结构变化最为敏感,因此可通过红外光谱对鸡肝蛋白二级结构进行分析^[20]。由图 4 可知,常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白在波数为 $1\,500\sim 1\,700\text{ cm}^{-1}$ 具有相同特征的最大吸收峰,与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白的二级结构变化更为显著,这与任晓锋^[7]采用双频超声处理玉米醇溶蛋白其波数在 $1\,648\text{ cm}^{-1}$ 具有相同特征最大吸收峰是一致的,表明采用超声处理对鸡肝蛋白的二级结构产生了重要影响。

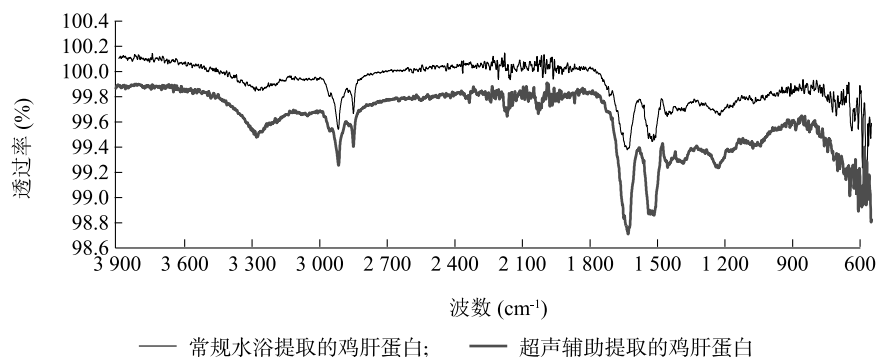
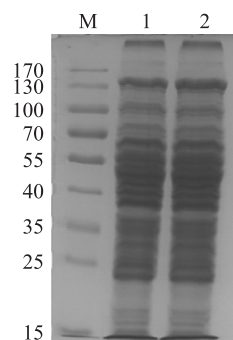


图 4 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的傅里叶红外光谱

Fig.4 Fourier infrared spectra of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

2.2.5 鸡肝蛋白的流变特性 流变性能与蛋白质的功能性质密切相关,如:凝胶能力、起泡能力影响着食品的品质^[9]。由图 5A 可知,鸡肝蛋白呈现假塑形流体($n < 1$),即黏度随剪切速率的增大而减小。在 $20\sim 200\text{ s}^{-1}$ 的高剪切速率下,与常规水浴提取相比,超声提取能显著增加鸡肝蛋白的流变指数 n 值,这与胡昊^[21]采用高场强超声波处理大豆蛋白的流变性变化是一致的,这可能是由于超声波的空穴作用加速鸡肝蛋白分子运动使其结构发生变化,从而导致其流变性能发生改变^[21]。由图 5B 可知,常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的储能模量 G' 随温度的升高而增大。与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白具有更高的弹性,这可能是由于超声处理能促使鸡肝蛋



1: 常规水浴提取的鸡肝蛋白;2: 超声辅助提取的鸡肝蛋白。

图 3 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的凝胶电泳

Fig.3 Gel electrophoresis of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

白形成均一、致密、高强度的凝胶网络结构^[22]。

2.2.6 鸡肝蛋白的表面微观结构 由图 6 可知,与常规水浴提取的鸡肝蛋白致密的网状结构相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白出现很多微孔,结构变得疏松。这些微观结构的变化可能是由于超声的空化效应使其形成的局部微射流及震荡波所产生的剪切力破坏了鸡肝蛋白分子间氢键和范德华力,从而使更多的巯基和疏水性基团暴露于其蛋白质表面,导致其粒径减小,蛋白质结构遭到破坏,使得蛋白质聚集体发生分散,形成更加宽松的层状结构^[23],这与金建^[6]采用双频超声处理玉米醇溶蛋白后表面微观结构变得疏松是一致的,采用超声处理对鸡肝蛋白结构产生重要影响,导致其表面微观结构发生显著变化。

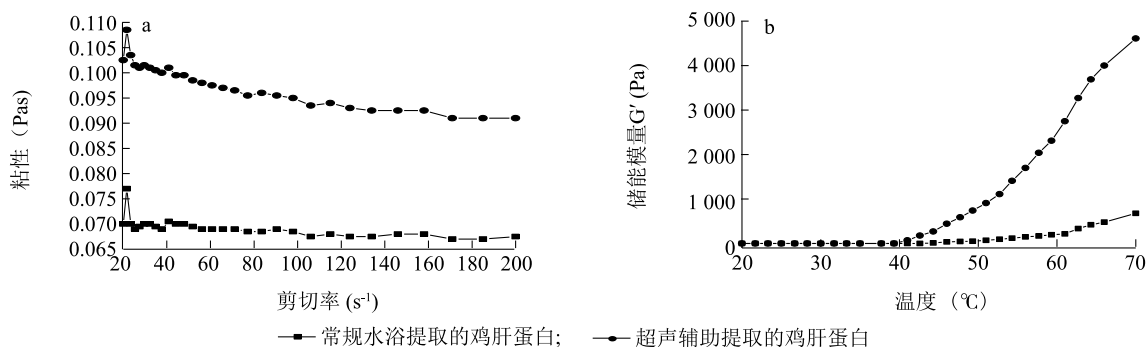


图 5 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的剪切黏度 (a) 和动态黏弹性 (b)

Fig.5 Shear viscosity (a) and dynamic viscoelasticity (b) of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

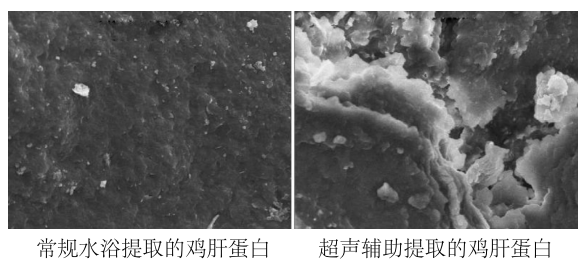


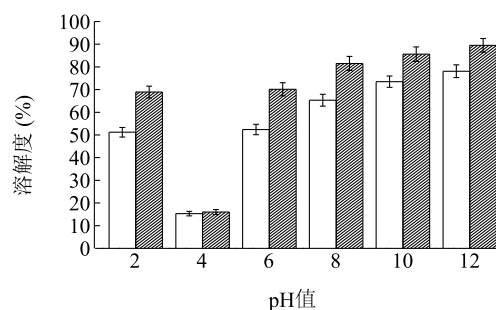
图 6 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的表面微观结构

Fig.6 Surface microstructure of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

2.3 鸡肝蛋白的功能特性

2.3.1 鸡肝蛋白的溶解性 溶解度是衡量蛋白质变性和聚集的重要指标之一,是蛋白质的重要功能性质之一^[21]。与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白溶解度显著提高(图 7)。这是由于超声处理引起蛋白质结构改变,形成可溶性蛋白质聚集体,蛋白质粒径减小,从而增加了蛋白质与水的相互作用^[24]。于雷等^[10]采用超声波辅助酶法提高了提取的米糠蛋白的溶解度。鸡肝蛋白的溶解度在等电点时(pH 为 4)时,溶解度最低,与其他 pH 组有显著差异($P<0.05$),这主要是由于鸡肝蛋白在等电点时呈中性,缺乏分子间静电排斥力,导致鸡肝蛋白沉淀,从而降低了其蛋白溶解度^[25]。当 pH 值偏离等电点,溶解度增大,pH 值大于 7 时的溶解度高于 pH 值小于 7 时的溶解度。

2.3.2 鸡肝蛋白的持水性及吸油性 蛋白质持水性是焙烤食品、肉制品等食品加工体系中的重要特性和功能指标^[26]。吸油性可增强食品对脂肪的吸



□ 常规水浴提取的鸡肝蛋白; ▨ 超声辅助提取的鸡肝蛋白

不同小写字母表示具有差异显著($P<0.05$)。

图 7 pH 对常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白溶解度的影响

Fig.7 Effect of pH on the solubility of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

附能力,从而改变其口感及风味^[27]。从表 2 可知,与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白的持水性及吸油性分别提高了 37.9%、29.5% ($P<0.05$),这可能是由于超声处理后鸡肝蛋白内部空间结构伸展,有利于增强其持水性及吸油性^[28],这与罗娟^[28]采用超声提取豆粕在适当的超声功率下豆粕蛋白的持水性及吸油性显著增大是一致的,表明采用超声辅助提取的鸡肝蛋白具有提高鸡肝蛋白持水性及吸油性等作用。

2.3.3 鸡肝蛋白的起泡性及起泡稳定性 蛋白质起泡性在食品工业中具有重要作用,在饮料、咖啡等有着广泛应用^[28]。由表 2 可知,与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白起泡性及起泡稳定性分别提高了 51.5%、75.9% ($P<0.05$),可能是由于超声处理的机械效应和空化作用改变了

鸡肝蛋白结构,更多的疏水性基团和亲水性基团暴露,具有更大的表面活性,从而降低水的表面张力^[28],这与刘国琴等^[29]采用超声提取的大豆分离蛋白的起泡性显著增加是一致的,表明超声提取具有提高鸡肝蛋白起泡性及起泡稳定性的作用。

2.3.4 鸡肝蛋白的乳化性及乳化稳定性 蛋白质乳化性及乳化稳定性在蛋糕、饮料等食品工业中具有重要作用^[28]。由表2可知,与常规水浴提取的鸡

肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白的乳化性及乳化稳定性分析提高了45.5%和37.0% ($P < 0.05$)。这可能是由于通过超声处理导致鸡肝蛋白内部结构遭到破坏,其结构更加松散,使得疏水性基团具有亲水亲油性,使其乳化性能提高^[29],这与罗娟^[28]采用超声提取的豆粕蛋白,在一定的超声功率下其乳化性及乳化稳定性显著提高一致,表明超声处理提高了鸡肝蛋白的乳化性及乳化稳定性。

表2 常规水浴提取的鸡肝蛋白和超声辅助提取的鸡肝蛋白的功能特性

Table 2 Functional characteristics of chicken liver protein obtained by conventional extraction method and ultrasound-assisted extraction method

样 品	WHC (g/g)	OHC (g/g)	FC (%)	FS (%)	EAI (m ² /g)	ESI (min)
常规水浴提取的鸡肝蛋白	2.53±0.14b	2.92±0.17b	87.6±3.1b	36.5±2.5b	95.1±3.9b	57.8±1.2b
超声辅助提取的鸡肝蛋白	3.49±0.21a	3.78±0.22a	132.7±5.4a	64.2±3.6a	138.4±6.1a	79.2±2.7a

WHC:持水性;OHC:吸油性;FC:起泡性;FS:起泡稳定性;EAI:乳化性;ESI:乳化稳定性。同一列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

3 结 论

与常规水浴提取的鸡肝蛋白相比,超声辅助提取的鸡肝蛋白的得率和总蛋白质含量均显著提高($P < 0.05$),表明超声辅助法可提高鸡肝的利用率。

超声辅助提取可导致鸡肝蛋白的分子结构伸展,使其蛋白高级结构发生改变,但超声作用并没有改变鸡肝蛋白的一级结构。同时,超声辅助法可显著提高鸡肝蛋白的凝胶性能等作用,扩大了鸡肝蛋白的潜在应用范围。

与常规水浴提取相比,采用超声提取可显著提高鸡肝蛋白的功能特性,该研究结果可为鸡肝蛋白的精深加工及高值化利用提供理论基础。

参考文献:

- [1] XIONG G,GAO X,WANG P,et al. Comparative study of extraction efficiency and composition of protein recovered from chicken liver by acid-alkaline treatment[J]. Process Biochemistry, 2016, 51 (10): 1629-1635.
- [2] 赵希艳,高光平,杨 洋. 鸡肝大蒜风味肠的研制[J]. 肉类工业,2009(10):22-25.
- [3] 武中庸,热孜万古力·赛买提,车敏娜,等. 响应面法优化紫色马铃薯花青素超声波提取工艺[J]. 江苏农业学报,2017,33 (6):1379-1385.
- [4] 吴德智,田昌义,郑 强,等.超声辅助双水相提取艾纳香总黄酮的工艺优化及抗氧化活性的研究[J].江苏农业科学,2017,45(15):153-156.
- [5] ZOU Y,WANG L,LI P,et al. Effects of ultrasound assisted extrac-

tion on the physicochemical, structural and functional characteristics of duck liver protein isolate[J]. Process Biochemistry, 2017, 52:174-182.

- [6] 金 建. 基于计算机模拟与超声辅助酶法制备高生物利用度玉米蛋白的研究[D]. 镇江:江苏大学, 2015.
- [7] 任晓锋. 扫频超声预处理对玉米醇溶蛋白特性及其酶法制备ACE抑制肽的影响[D]. 镇江:江苏大学,2014.
- [8] 林方养,杨耀东,万 婕,等. 几种SDS-PAGE凝胶电泳染色方法的比较[J]. 安徽农业科学,2014(8):2295-2296.
- [9] 包中宇. 超声波技术对大豆分离蛋白功能性质、结构及凝胶特性的影响[D]. 南昌:南昌大学,2015.
- [10] 于 雷,张 薇,乔筱童,等. 超声波辅助双酶法与碱法提取米糠蛋白功能特性的比较研[J]. 食品科技,2014(11):256-261.
- [11] 王 攀. 核桃蛋白持水性影响因素研究[J]. 陕西农业科学, 2015,61(2):32-33.
- [12] 梁 珊. 芸豆蛋白的提取及理化功能特性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2015.
- [13] 张维农,刘大川,胡小泓. 花生蛋白产品功能特性的研究[J]. 中国油脂,2002,27(5):60-65.
- [14] 邹 烨. 猪脑多肽的制备、分离及其生物活性研究[D]. 镇江:江苏大学,2015.
- [15] TANG C,YANG X Q,CHEN Z,et al. Physicochemical and structural characteristics of sodium caseinate biopolymers induced by microbial transglutaminase [J]. Journal of Food Biochemistry, 2005,29(4):402-421.
- [16] SONG J,TAO W,CHEN W. Ultrasound-accelerated enzymatic hydrolysis of solid leather waste[J]. Journal of Cleaner Production, 2008,16(5):591-597.
- [17] LI S,YANG X,ZHANG Y,et al. Effects of ultrasound and ultrasound assisted alkaline pretreatments on the enzymolysis and structural characteristics of rice protein[J]. Ultrasonics Sonochemistry,

- 2016,31(11):20-28.
- [18] ZHOU C, MA H, YU X, et al. Pretreatment of defatted wheat germ proteins (by-products of flour mill industry) using ultrasonic horn and bath reactors; Effect on structure and preparation of ACE-inhibitory peptides [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2013, 20(6): 1390-1400.
- [19] ZHANG Q T, TU Z C, XIAOH, et al. Influence of ultrasonic treatment on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate [J]. *Food & Bioproducts Processing*, 2014, 92(1): 30-37.
- [20] JACKSON M, MANTSCH H H. Halogenated alcohols as solvents for proteins; FTIR spectroscopic studies [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1992, 1118(2): 139-143.
- [21] 胡 昊. 利用高场强超声波增强大豆蛋白凝胶性及凝胶缓释效果 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- [22] HATTORI M, NUMAMOTO K-I, KOBAYASHI K, et al. Functional changes in β -lactoglobulin by conjugation with cationic saccharides [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(6): 2050-2056.
- [23] WANG Z, LIN X, LI P, et al. Effects of low intensity ultrasound on cellulase pretreatment [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 117(10): 222-227.
- [24] ARZENI C, MARTINEZ K, ZEMA P, et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality [J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 108(3): 463-472.
- [25] 孙燕婷, 黄国清, 肖军霞, 等. 超声处理对大豆分离蛋白溶解性和乳化活性的影响 [J]. *中国粮油学报*, 2011, 26(7): 22-26.
- [26] YUAN B, REN J, ZHAO M, et al. Effects of limited enzymatic hydrolysis with pepsin and high-pressure homogenization on the functional properties of soybean protein isolate [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, 46(2): 453-459.
- [27] DENG Q, WANG L, WEI F, et al. Functional properties of protein isolates, globulin and albumin extracted from Ginkgo biloba seeds [J]. *Food Chemistry*, 2011, 124(4): 1458-1465.
- [28] 罗 娟. 超声波对枯草芽孢杆菌液态发酵豆粕及其产物功能特性的影响 [D]. 镇江: 江苏大学, 2016.
- [29] 刘国琴, 李 琳, 李 冰, 等. 超声和超高压处理对大豆分离蛋白特性影响的研究 [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2005, 26(3): 1-4.

(责任编辑: 陈海霞)